

**CLAUDIA CARVALHO PESTANA SILVA**

**NÍVEL SÉRICO DE INTERLEUCINA 10 E FATOR DE  
NECROSE TUMORAL EM PACIENTES COM TRAUMA  
CRANIANO: UM ESTUDO PILOTO**

**Trabalho apresentado à Universidade  
Federal de Santa Catarina, como requisito  
para a conclusão do Curso de Graduação  
em Medicina.**

**Florianópolis  
Universidade Federal de Santa Catarina  
2009**

**CLAUDIA CARVALHO PESTANA SILVA**

**NÍVEL SÉRICO DE INTERLEUCINA 10 E FATOR DE  
NECROSE TUMORAL EM PACIENTES COM TRAUMA  
CRANIANO: UM ESTUDO PILOTO**

**Trabalho apresentado à Universidade  
Federal de Santa Catarina, como requisito  
para a conclusão do Curso de Graduação  
em Medicina.**

**Presidente do Colegiado: Prof. Dr. Rogério Paulo Moritz**

**Professor Orientador: Prof. Dr. Roger Walz**

**Professor Co-Orientador: Dra. Kátia Lin**

**Florianópolis**

**Universidade Federal de Santa Catarina**

**2009**

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus avós (in  
memorian), exemplos de caráter e  
honestidade.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por zelar por mim em todos os momentos de minha vida e à Virgem Maria por estar ao meu lado nos momentos de maior dificuldade. Agradeço à Deus pela oportunidade de realizar este trabalho.

À minha família, em especial meus pais e meu irmão, pelo suporte diário e pelo amor incondicional. Obrigada pelo apoio nos momentos de dificuldade na realização deste trabalho.

Ao Doutor Daniel Souza Santos, com quem tive a oportunidade de conviver durante a Liga do Trauma e a quem admiro como médico e indivíduo pela sua simplicidade

À Doutora Kátia Lin, que aceitou ser minha co-orientadora. Obrigada por sua dedicação e apoio.

Ao meu professor e orientador, Doutor Roger, a quem tenho admiração pela sua genialidade e a quem tenho como exemplo de líder. Através de seu exemplo como pesquisador que suscitou em mim o gosto pela pesquisa científica.

Ao Jackson e à Flávia que me auxiliaram na realização deste trabalho. Sem a ajuda de vocês este trabalho seria ainda mais árduo. Especialmente ao Jackson com quem pude trabalhar na pesquisa por quase 3 anos.

A todos que participam do projeto neurotrauma, que foi base deste TCC, por sua contribuição na realização deste trabalho. Em uma equipe a conquista de um não é possível não fosse pela dedicação e esforço de cada um na realização de suas atribuições. Obrigada pelo trabalho e dedicação de cada membro da equipe neurotrauma.

À Melina, com quem tenho realizado este trabalho há quase 3 anos e que me auxiliou na coleta dos dados. Agradeço também à sua amizade. Agradeço à Priscila e à Juliana pela ajuda na coleta.

À todos que trabalham no NUPNEC e no Hospital Governador Celso Ramos, em especial à Shumaia.

Aos pacientes, enfermeiros e funcionários do Hospital Governador Celso Ramos, obrigado por permitirem o desenvolvimento deste trabalho.

Ao CNPq e FAPESC pelo financiamento desta pesquisa.

## RESUMO

**Introdução:** O traumatismo crânio-encefálico (TCE) é a principal causa de morbimortalidade na população jovem. As lesões secundárias relacionadas ao TCE são extremamente lesivas para as células do sistema nervoso central. A resposta inflamatória em indivíduos que sofreram TCE é rápida e disseminada e sua associação com a gravidade do TCE é um ponto a ser esclarecido.

**Objetivo:** Investigar a associação dos níveis plasmáticos de marcadores inflamatórios e a gravidade do TCE.

**Métodos:** Analisaram-se os níveis plasmáticos de IL-10 e TNF coletados nas primeiras 12h após o trauma craniano de 10 pacientes vítimas de TCE grave, 4 pacientes com TCE moderado e 6 pacientes com TCE leve.

**Resultados:** Não houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis de IL-10 ( $p = 0.16$ ) nos 3 grupos estudados. Houve uma tendência para a ocorrência de diferença nos níveis de TNF nos 3 grupos estudados ( $p = 0.07$ ), sendo que a análise pós-hoc evidenciou uma tendência não significativa para níveis mais elevados de TNF nos pacientes com TCE grave quando comparados ao grupo de TCE leve ( $p = 0.18$ ) e TCE moderado ( $p = 0.17$ ).

**Conclusão:** O estudo não permitiu estabelecer a existência ou não de associação entre os níveis séricos de IL-10 e TNF e a gravidade do TCE. Estudos posteriores com um aumento no tamanho das amostras são necessários para estabelecer a conclusão sobre esta questão.

## ABSTRACT

**Introduction:** Traumatic brain injury (TBI) is the leading cause of morbimortality among young people. Secondary lesions related to TBI are extremely harmful to the Central Nervous System cells. The inflammatory response among patients with TBI is quick and overspread and its association with TBI severity remains to be investigated.

**Objectives:** To investigate the association between plasma level of cytokines makers and the severity of TBI.

**Methods:** We analyzed the association between the severity of TBI and plasma levels of IL-10 and TNF measured in the first 12 hours after event in 10 patients with severe, 4 patients with moderate and 6 patients with minor TBI.

**Results:** There was no significant statistical difference in the plasma level of IL-10 ( $p = 0.16$ ) among the studied group. There was a non-significant trend for difference in the TNF among the 3 groups ( $p = 0.07$ ). Post-hoc analysis showed a non-significant trend for higher levels of plasmatic TNF in patients with severe TBI when compared with patients with mild ( $p = 0.18$ ) and moderate TBI ( $p = 0.17$ ).

**Conclusions:** The association between TBI severity and the plasmatic levels of the studied cytokine markers remains unknown. Further research using a larger sample is necessary to clarify this question.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2'- azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ANOVA	<i>Analysis of variance between groups</i>
CBA	<i>Cytometric Bead Array</i> , citometria de fluxo
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DALY	<i>Disability-adjusted life year</i>
ECG	Escala de coma de Glasgow
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA	Ensaio Imunoenzimático Indireto
FAPESC	Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica de Santa Catarina
INF	Interferon
HGCR	Hospital Governador Celso Ramos
IL	Interleucina
IL-1RA	Receptor do antagonista da interleucina 1
NUPNEC	Núcleo de Pesquisas em Neurologia Experimental e Clínica da UFSC
PIBIC	Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TC	Tomografia computadorizada
TCDB	Banco de dados do coma traumático
TCE	Traumatismo crânio-encefálico
Th	Célula T helper
TNF	Fator de Necrose Tumoral
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

## SUMÁRIO

<b>FALSA FOLHA DE ROSTO</b> .....	i
<b>FOLHA DE ROSTO</b> .....	ii
<b>DEDICATÓRIA</b> .....	iii
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	iiiv
<b>RESUMO</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	vii
<b>SUMÁRIO</b> .....	viii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 OBJETIVO</b> .....	8
<b>3 MÉTODOS</b> .....	9
<b>3.1 Desenho do estudo</b> .....	9
<b>3.2 Local</b> .....	9
<b>3.3 Amostra</b> .....	9
<b>3.3.1 Critérios de inclusão</b> .....	9
<b>3.3.2 Critérios de exclusão</b> .....	9
<b>3.4 Dosagens imunológicas</b> .....	10
<b>3.5 Instrumento</b> .....	10
<b>3.6 Análise estatística</b> .....	11
<b>3.7 Aspectos éticos</b> .....	11
<b>4 RESULTADOS</b> .....	12
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	14
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	16
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	17
<b>NORMAS ADOTADAS</b> .....	21
<b>ANEXO I -- Ficha de coleta de dados</b> .....	22
<b>ANEXO II - Termo de consentimento pós informação (para familiar)</b> .....	26
<b>FICHA DE AVALIAÇÃO</b> .....	27





## 1 - INTRODUÇÃO

O traumatismo crânio-encefálico (TCE) é a principal causa de morbimortalidade na população jovem.<sup>1,2</sup> Constitui um dos principais problemas socioeconômicos na sociedade atual em função do elevado índice de mortalidade, hospitalizações prolongadas e graves seqüelas.<sup>1</sup> Houve avanços importantes na compreensão dos mecanismos envolvidos no TCE bem como na sua fisiopatologia, o que contribuiu para a melhora do prognóstico dos pacientes neurotraumatizados.<sup>1</sup>




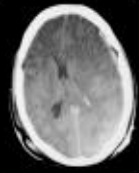
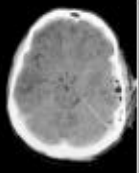
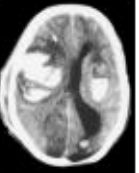
### 1.1- Definição/Conceito:

O TCE pode ser definido como uma alteração na função cerebral manifestada como confusão, alteração no nível de consciência, convulsão, coma ou déficit neurológico sensitivo ou motor resultante da aplicação de uma força, penetrante ou não sobre a cabeça.<sup>2</sup> Os pacientes com TCE representam um grupo heterogêneo, com diferentes tipos de lesões cerebrais – focais ou difusas – de acordo com a morfologia e os achados de Tomografia Computadorizada (TC). Lesões focais incluem as contusões cerebrais, hematomas intracranianos (epidural, subdural e intraparenquimatoso) e alterações cerebrais secundárias ao aumento de pressão intracraniana e a alterações no parênquima encefálico. As lesões difusas incluem alterações vasculares e axonais difusas, lesões cerebrais hipóxicas e *swelling* cerebral. Diferentemente das lesões difusas, as lesões focais podem, em alguns casos, ser evacuadas cirurgicamente.<sup>1</sup>

### 1.2- Classificação:

A classificação de lesões cerebrais utilizada é a proposta pelo *Traumatic Coma Data Bank* (TCDB) que diferencia o TCE em quatro tipos de lesões difusas e dois tipos de lesões focais de acordo com achados neuroradiológicos da TC (escala de Marshall, Figura 1). Outra forma de classificar as lesões do TCE é em lesões primárias e secundárias. A primeira ocorre no momento do trauma e decorre da aceleração/desaceleração e de movimentos do encéfalo no interior da calota craniana.<sup>1</sup> A segunda são manifestações clínicas mais tardias decorrentes







de eventos sistêmicos ou da resposta tissular ao dano primário e são potencialmente evitáveis.<sup>1, 3</sup> O processo de isquemia cerebral é uma lesão secundária que desencadeia uma cascata de fatores bioquímicos de grande importância na fisiopatologias do TCE.<sup>1</sup>

Tipo de lesão	L. Difusa tipo I	L. Difusa tipo II	L. Difusa tipo III	L. Difusa tipo IV	Massa Evacuável	Massa não Evacuável
Características radiológicas	TC normal	Pequenas lesões (Linha média centrada e cisternas visíveis)	Swelling bilateral (Ausência de cisternas de base)	Swelling unilateral (Linha média desviada >5mm)	Qualquer lesão evacuável	Lesão >25ml não evacuável
TC exemplo com cada tipo de lesão						

**Figura 1 - Classificação de Marshall.**

FONTE: Marshall LF et al. A new classification of head injury based on computerized tomography. J Neurosur. 1991; 75: 14-20.

A classificação do nível de consciência mais aceita na prática clínica é a Escala de Coma de Glasgow (ECG) (Figura 2). A ECG avalia três parâmetros independentes: a resposta verbal, a resposta motora e a abertura ocular.<sup>1,2</sup> A ECG permite classificar a gravidade do TCE numa escala de pontuação que varia de 3 a 15 pontos. Considera-se TCE leve pacientes com pontuação de 13 a 15, moderado de 9 a 12 e grave de 3 a 8.<sup>2</sup> Apesar de ser instrumento valioso na avaliação do estado neurológico, pode haver subestimação da pontuação em situações onde há impedimento na avaliação de um ou mais indicadores.<sup>5</sup>

Escala de Coma de Glasgow		<u>Resposta Motora</u>	
<u>Resposta Verbal</u>		Obedece ordens	 6
Orientada	5	Localiza a dor	 5
Confusa	4	Retirada a dor	 4
Inapropriada	3	Flexão anormal	 3
Incompreensível	2	Extensão	 2
Sem resposta	1	Sem resposta	 1
<u>Abertura Ocular</u>			
Espontânea	4		
Aos comandos	3		
À dor	2		
Sem abertura	1		

**Figura 2 - Escala de Coma de Glasgow**

FONTE: Jennett B et al. Disability after severe head injury: observations on the use of the Glasgow Coma Scale. J Neurol Neurosurg Psychiatr. 1981; 44:285.

### 1.3- Incidência:

A incidência de TCE nos países desenvolvidos é de 200 casos/100000 habitantes/ano, com pico de incidência na primeira infância, adolescentes e adultos jovens e idosos.<sup>2</sup> A alta incidência na população jovem resulta em prejuízos econômicos e sociais em função de acometer a faixa etária produtiva da população.<sup>7</sup> Os homens são mais acometidos pelo TCE do que as mulheres.<sup>2,8</sup> Dados nacionais corroboram essas estatísticas e revelam o predomínio de adultos jovens e pacientes do sexo masculino nas vítimas de TCE.<sup>7,9,10</sup>

As causas do TCE diferem conforme a faixa etária: acidentes automobilísticos e violência predominam nos adolescentes e adultos jovens, enquanto as quedas têm maior incidência nos idosos e nas crianças.<sup>11</sup> De forma geral, os TCEs resultantes de assaltos e acidentes automobilísticos representam os casos mais severos do que todas as demais etiologias juntas.<sup>2</sup> Estima-se que o TCE corresponda de um terço a metade das mortes por trauma.<sup>12</sup> Maegel *et al.*<sup>8</sup>, em um estudo prospectivo de 10 anos realizado na região de Colônia

na Alemanha, encontraram uma taxa de mortalidade por TCE de 45,8%: 28% representaram mortes em ambiente pré-hospitalar e 17,8% mortes no hospital. Cerca de metade das mortes por TCE ocorrem na cena do acidente, durante o transporte ou no atendimento pré-hospitalar.<sup>2</sup> Assim, medidas educativas e de prevenção têm impacto positivo na incidência e na gravidade do TCE.<sup>7</sup>

No Brasil há poucos estudos epidemiológicos sobre o TCE devido a obstáculos metodológicos.<sup>13</sup> Em um estudo de 1991 foi estimada a incidência de TCE em Brasília de 341/100000 habitantes.<sup>9</sup> Outro estudo analisando dados do município de São Paulo estimou uma taxa de mortalidade por TCE entre 26 e 39/100000 habitantes.<sup>13</sup> Estudo prospectivo de 596 casos de TCE grave admitidos na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) do Hospital Governador Celso Ramos (HGCR) constatou que 77,8% dos casos envolveram acidentes de trânsito (acidentes automobilísticos, moto e atropelamento).<sup>7</sup> O impacto desses números na sociedade pode ser evidenciado no *Global Burden of Disease Study*, que listou as principais causas de *disability-adjusted life year (DALY)*. O *DALY* é um indicador que considera os anos perdidos devido à morte prematura e os anos de vida perdidos decorrentes de incapacidade. Nesse estudo, os acidentes automobilísticos encontram-se entre as 10 maiores causas de *DALYs* no mundo em 1990.<sup>14</sup>

#### **1.4- Modelos prognósticos:**

Modelos prognósticos são modelos estatísticos que combinam dois ou mais dados do paciente a fim de prever o desfecho clínico. Os médicos baseiam suas decisões terapêuticas no prognóstico do paciente, dispensando maiores recursos naqueles com melhor prognóstico. Há diversos modelos prognósticos para o TCE, porém poucos são amplamente aceitos e utilizados na prática clínica. Outra limitação é o fato de que a maioria desses modelos foi feita em países desenvolvidos, não abrangendo a população dos países subdesenvolvidos onde grande parte dos traumas ocorrem.<sup>15</sup> Estudo recente mostrou que a idade, escala de coma de Glasgow, resposta pupilar, características da tomografia computadorizada (TC) são as principais variáveis prognósticas independentes para mensurar as sequelas após seis meses da injúria.<sup>16</sup>

O Núcleo de Pesquisas em Neurologia experimental e Clínica da UFSC (NUPNEC-UFSC) realizou um estudo prospectivo sobre a mortalidade de pacientes com TCE grave atendidos na UTI do HGCR ao longo de 10 anos, usando análise de regressão logística multivariada. Foram incluídos 748 pacientes consecutivos admitidos na UTI do HGCR entre

janeiro de 1994 e dezembro de 2003. O estudo demonstrou que idade avançada, achados tomográficos, ECG, exame das pupilas e a presença de trauma torácico na admissão estiveram independentemente associados com a mortalidade dos TCEs graves.<sup>10</sup>

### **1.5- Resposta inflamatória e TCE:**

As lesões secundárias relacionadas ao TCE, representadas pelas cascatas de reações bioquímicas complexas e alterações fisiopatológicas são extremamente lesivas para as células do sistema nervoso central (SNC) e têm papel importante na fisiopatologia do TCE (Figura 3).<sup>1</sup>

A inflamação consiste de respostas vasculares, migração e ativação de leucócitos e reações sistêmicas. As reações inflamatórias são desencadeadas por vários estímulos, dentre eles o trauma.<sup>17</sup> As citocinas, mediadores químicos da inflamação, são proteínas de baixo peso molecular, secretadas no espaço extracelular ou expressas na superfície das células.<sup>17,18</sup> São produzidas por vários tipos de células, principalmente linfócitos e macrófagos ativados.<sup>17</sup> Na presença de lesões no SNC, diversas citocinas podem ser expressas por células residentes do SNC, como as micróglia.<sup>19</sup> Atuam como moléculas sinalizadoras, modulando a função de outros tipos celulares.<sup>17,19</sup>

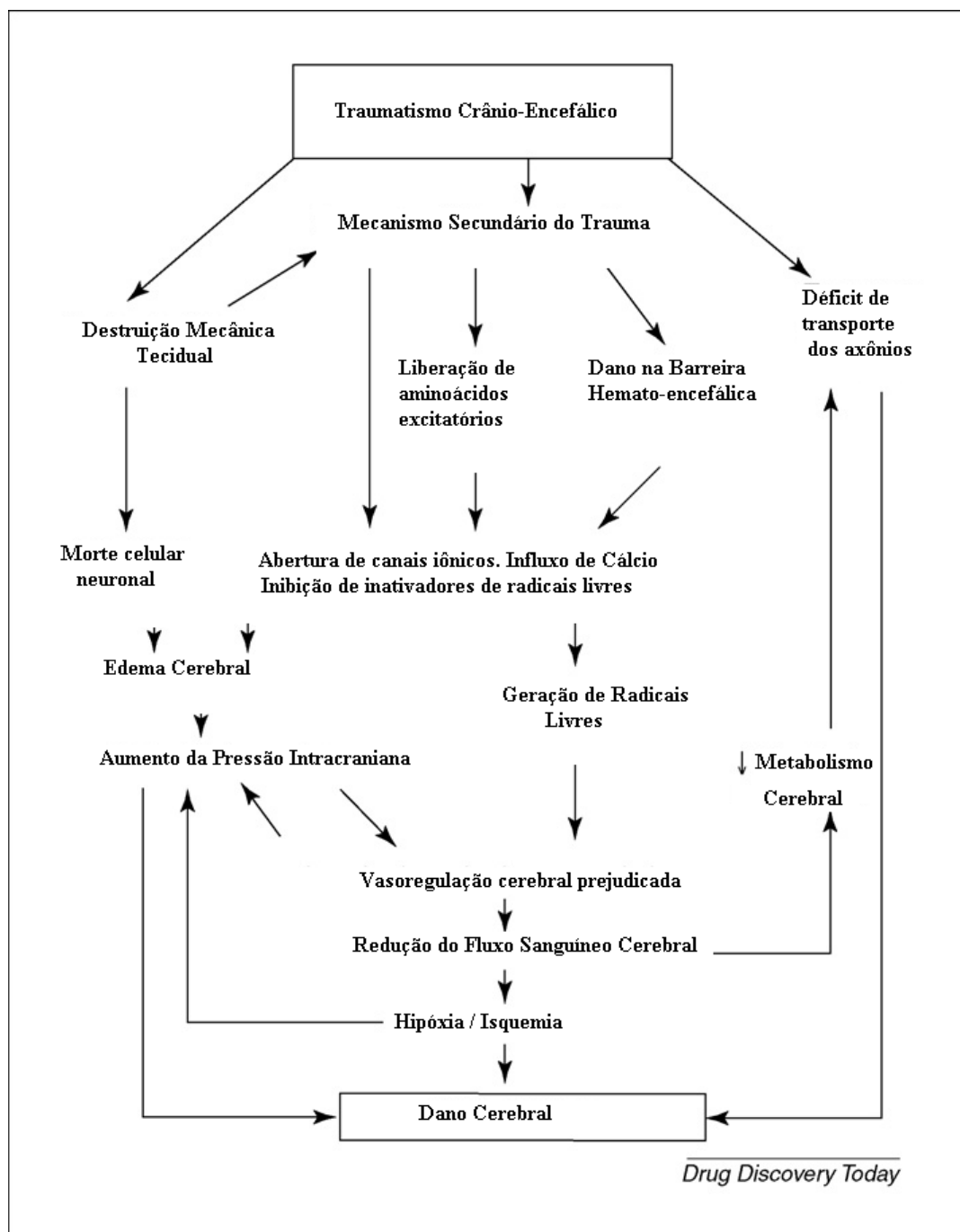
A composição e a regulação da resposta inflamatória dependem da migração controlada de populações leucocitárias. As células T CD4<sup>+</sup>, também denominadas T-helper (Th), podem ser subdivididas em dois subgrupos dependendo do padrão de citocinas produzidas: Th1 e Th2. Células Th1 secretam citocinas pró-inflamatórias, dentre as quais INF- $\gamma$ , IL-2, TNF. As células Th2 produzem citocinas estimuladoras de células B e anti-inflamatórias, dentre as quais IL-4, IL-5, IL-13.<sup>20,21</sup>

No cérebro, as citocinas normalmente são encontradas em baixas quantidades e o seu aumento está associado com desordens que envolvem quebra da barreira hemato-encefálica. A super expressão de citocinas no cérebro é um dos fatores que contribui na patogênese da neurotoxicidade e em desordens degenerativas. O aumento no processo inflamatório sistêmico, incluindo o extravasamento de leucócitos ativados e citocinas, pode contribuir para o aumento da ocorrência de danos no SNC, já que a circulação periférica de citocinas e outros fatores neurotóxicos pode aumentar o dano em outros órgãos além do cérebro.<sup>22,23,24</sup>

Após o TCE, ocorre rompimento da barreira hemato-encefálica, resultando na ativação das células microgliais intrínsecas, recrutamento do sistema fagocitário mononuclear (monócito) para o sítio da lesão e reação astrogliar.<sup>25</sup> A resposta inflamatória em indivíduos

que sofreram TCE é rápida e disseminada e o mecanismo pelo qual as citocinas induzem neurotoxicidade ou neuroproteção necessita ser determinado. O grau de envolvimento da ativação microglial, astrocitária e da resposta inflamatória após TCE promove efeitos neuroprotetores bem como neurotóxicos e o equilíbrio entre a resposta Th1/Th2 é o principal mecanismo de manutenção das funções cerebrais.<sup>26,27,28</sup> Possivelmente o tempo de indução dessa resposta (pró ou anti-inflamatória) está envolvido com a progressão dos danos ocasionados pelo trauma.<sup>24,29,30</sup>

A identificação desses marcadores bioquímicos em associação com variáveis clínicas, laboratoriais, radiológicas e neurocirúrgicas são um importante desafio científico na identificação de marcadores prognósticos e de possíveis alvos terapêuticos no TCE.<sup>20</sup>



**Figura 3** - Sequência de eventos do traumatismo crânio-encefálico

Fonte: Jain KK. Neuroprotection in traumatic brain injury. *Drug Discov Today*. 2008; 13:1083.



## **2- OBJETIVO**

Investigar a associação dos níveis plasmáticos de Interleucina 10 e Fator de Necrose Tumoral e a gravidade do TCE.

### **3- MÉTODOS**

#### **3.1- Tipo do estudo:**

Estudo transversal.

#### **3.2- Local:**

O estudo foi realizado no Hospital Governador Celso Ramos , em Florianópolis, onde amostras de sangue de pacientes atendidos na emergência e posteriormente admitidos na Unidade de Terapia Intensiva local. O HGCR é o hospital referência para TCE e abrange uma área de cerca de um milhão de habitantes da região metropolitana da cidade de Florianópolis. A equipe neurocirúrgica e grande parte dos médicos intensivistas são essencialmente os mesmos ao longo do estudo.

#### **3.3-Amostra:**

##### **3.3.1- Critérios de inclusão:**

Foram utilizadas amostras de sangue de um banco de sangue de pacientes que participam do projeto “Neurotrauma: Bases fisiopatológicas, prognóstico e tratamento”, executado pela equipe do NUPNEC, coordenado pelo Prof. Roger Walz, financiado pela FAPESC. O critério das amostras foi aleatório, sendo selecionados seis pacientes com TCE leve (ECG entre 13-15), quatro com moderado (ECG entre 9-13) e 10 com severo (escala de Glasgow < 8) admitidos no HGCR no período de abril de 2006 a setembro de 2008. O número escolhido de casos foi determinado exclusivamente pela disponibilidade dos kits de citometria de fluxo no momento da execução deste projeto piloto. A média de tempo entre a ocorrência do trauma e a realização da coleta das amostras foi de 10,3 (+/- 8,9) horas.

##### **3.3.2- Critérios de exclusão:**

Foram excluídos pacientes com exame neurológico compatível com morte encefálica

nas primeiras 24 horas de admissão na UTI.

### **3.4- Dosagens Imunológicas:**

Após a autorização do paciente ou familiar responsável em participar do estudo, foram coletadas amostras de sangue através de s-monovette com EDTA e sem EDTA nas primeiras 24 horas após o trauma. O material foi centrifugado e o soro armazenado em freezer a -70°C.

Variáveis clínicas, laboratoriais, radiológicas e neurocirúrgicas foram coletadas, obedecendo ao protocolo pré-determinado (Anexo I) NUPNEC.

As dosagens de interleucina 10 (IL-10) e fator de necrose tumoral (TNF) foram realizados através de citometria de fluxo utilizando kits específicos, utilizando uma nova tecnologia (CBA) que consta na detecção de citocinas via a utilização de *beads* fluorescentes. Brevemente, anticorpos monoclonais contra IL-10 e TNF são incubados *overnight* à 4°C em placas de 96 poços de alta afinidade. Após bloqueio são adicionados os sobrenadantes, a placa permanece incubada a 4°C durante a noite, sendo posteriormente lavada com PBS-*tween* e os anticorpos anti-citocinas biotinizados adicionados. Após 1 h a 37°C a placa é lavada, o complexo avidina-biotina-peroxidase adicionado, a reação revelada com ABTS e a leitura realizada a 405 nm.

### **3.5- Instrumento:**

Os experimentos bioquímicos foram realizados no Laboratório de Imunologia e Doenças Infecciosas do Centro de Ciências Biológicas da UFSC. Este laboratório conta com todos os equipamentos necessários para a realização dos experimentos de neuroquímica.

### **3.6- Análise estatística:**

Inicialmente foram avaliadas as características clínicas e demográficas dos pacientes. Nesta fase as variáveis avaliadas foram: idade, sexo e ECG. Em seguida, foi realizada a comparação entre os níveis séricos de IL-10 e TNF nos 3 grupos estudados utilizando-se ANOVA seguida do teste de Bonferroni (pós-hoc) caso indicado. Níveis de significância abaixo de 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Para realização da análise estatística foi utilizado o programa SPSS 12.0 (Chicago, USA).

### **3.7 Aspectos éticos:**

Este estudo possui aprovação do Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina sob o número 163/2005. Foi obtido termo de consentimento do paciente ou familiar responsável para a coleta das amostras de sangue (Anexo II).

## 4- RESULTADOS

A tabela 1 apresenta as características clínicas e demográficas dos pacientes estudados. Houve uma predominância de pacientes do sexo masculino nos três grupos. Não houve diferença estatisticamente significativa na média de idade dos três grupos estudados ( $p = 0,24$ , ANOVA). Como era de se esperar, houve uma diferença estatisticamente significativa na média de pontuação da ECG nos três grupos estudados ( $p < 0,001$ , ANOVA). A média de tempo entre a ocorrência do trauma e a realização da coleta das amostras foi de 10,3 ( $\pm 8,9$ ) horas. Não houve diferença estatisticamente significativa entre a média de tempo entre a ocorrência do TCE e a coleta das amostras nos três grupos estudados (ANOVA  $\geq 0,06$ ).

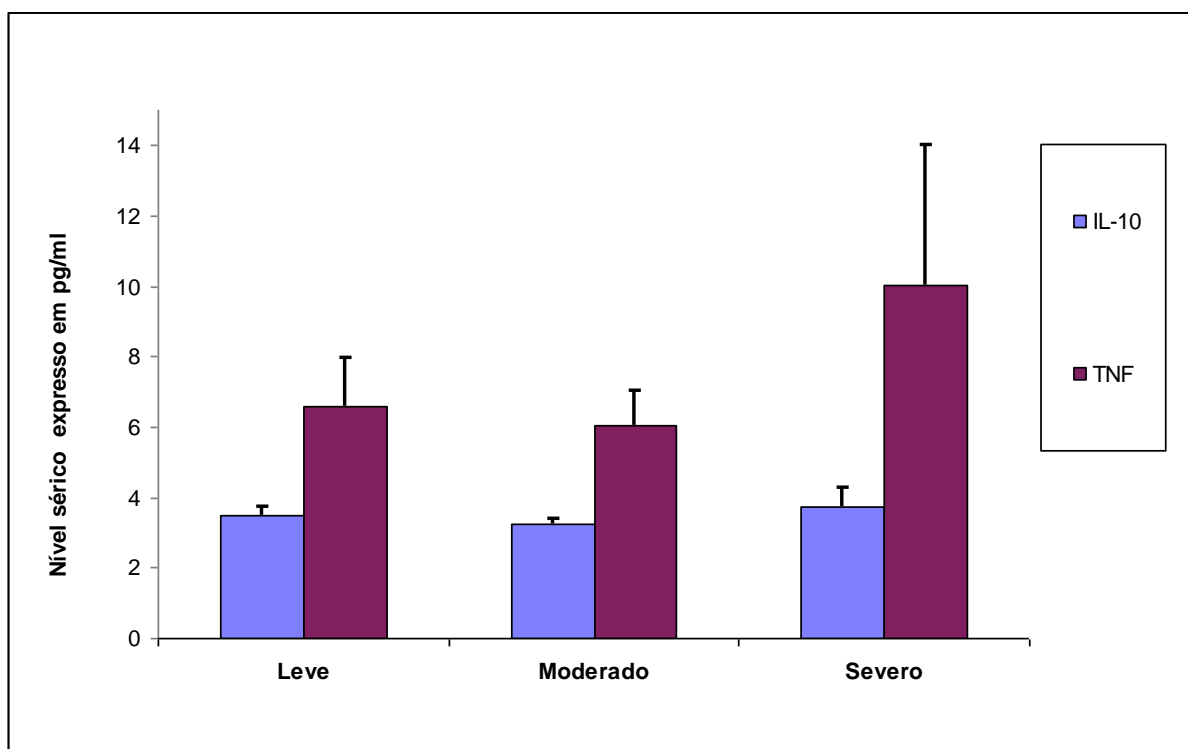
**Tabela 1** - Sumário de variáveis clínicas e demográficas dos 3 grupos estudados.

Variável	Leve (n = 06)	Moderado (n = 04)	Severo (n = 10)
Sexo			
Masculino (n)	4	3	8
Feminino (n)	2	1	2
Idade, média $\pm$ DP*	30,6 (9,45)	21,25 (10,7)	28,8 (8,81)
ECG, média $\pm$ DP*	14,3 (0,81)	10,75 (1,71)	05,9 (2,3)

\*DP= Desvio Padrão

O gráfico 1 mostra a média e desvio padrão dos níveis de IL-10 e TNF dos pacientes com TCE leve, moderado e severo. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis de IL-10 ( $p = 0,16$ , ANOVA). Houve uma tendência para a ocorrência de diferença nos níveis de TNF nos três grupos estudados ( $p = 0,07$ , ANOVA). Uma análise pós-hoc (Teste de Bonferroni) evidenciou uma tendência não significativa para níveis mais elevados de TNF nos pacientes com TCE grave quando comparados ao grupo de TCE leve ( $p = 0,18$ ) e TCE moderado ( $p = 0,17$ ).

**Gráfico 1** - Média e desvio padrão dos níveis de IL-10 e TNF dos 3 grupos estudados.



## 5- DISCUSSÃO

Nosso estudo piloto evidenciou que a metodologia de ELISA utilizada para detecção dos níveis plasmáticos séricos de IL-10 e TNF é viável nas condições laboratoriais do nosso grupo de pesquisa.

Em relação às características clínicas e demográficas, a predominância de pacientes adultos jovens do sexo masculino nos três grupos de pacientes estudados é corroborada pela literatura. Quanto ao sexo, homens apresentam um risco maior de TCE quando comparado às mulheres, resultado da violência interpessoal e acidentes automobilísticos durante a adolescência e a fase adulta. Durante esses “anos de testosterona”, a taxa de TCE no sexo masculino em relação ao feminino pode exceder a proporção de 4:1.<sup>2,13,10</sup> Em função de acometer a população economicamente ativa, o TCE resulta em prejuízos econômicos e sociais significativos.<sup>7</sup>

A IL-10, produzida pelos monócitos, possui atividade anti-inflamatória e depressora da imunidade celular.<sup>31</sup> TNF é uma citocina com atividade pró-inflamatória que atua na regulação da síntese de IL-10.<sup>32</sup> Estudos sugerem que em condições patológicas, o TNF induz a síntese de IL-10 pelos monócitos.<sup>32,33</sup>

Determinar a associação entre os níveis de citocinas inflamatórias e o TCE é uma etapa importante para identificar possíveis alvos terapêuticos para drogas. Atualmente, com exceção de medidas suportivas, não há drogas aprovadas para o tratamento do TCE.<sup>34</sup>

Prognóstico desfavorável em pacientes com TCE são causados em parte pela ocorrência de complicações infecciosas. Mecanismos neuro-endócrinos estão envolvidos na imunodepressão após o TCE. As catecolaminas, aumentadas em situações de estresse, induzem a liberação de IL-10 pelos monócitos, assim, a ativação simpática pode ser um importante mecanismo para a imunodepressão induzida pelo TCE. Alvos terapêuticos através da inibição da hiperestimulação simpática e tendo como alvo a IL-10 podem ser considerados.<sup>31</sup>

A reatividade astrogliol pode ser atenuada pela IL-10 via redução da produção de citocinas pelos macrófagos/monócitos. A manipulação da extensão da astrogliose pode ser uma possibilidade de controlar o papel neurotrófico ou inibitório dos astrócitos no processo de recuperação neurológica após o TCE.<sup>25</sup>

Em um estudo envolvendo pacientes submetidos à neurocirurgia eletiva, foi detectado aumento pós-operatório no nível plasmático da IL-10 e IL-1RA e não houve alterações significativas nos níveis séricos de TNF e IL-6 no pós-operatório.<sup>31</sup>

Os resultados não permitiram estabelecer uma associação entre os níveis séricos das interleucinas estudadas e a gravidade do TCE. Este resultado pode ser um erro do tipo II, no qual uma diferença real não é observada por um problema metodológico, como, por exemplo, um número baixo de pacientes compondo a amostra estudada. Para esclarecer esta questão, nosso grupo de pesquisa irá aumentar o tamanho da amostra nos próximos 12 meses de trabalho. Outro ponto importante que poderia estar influenciando nossos resultados é o momento da coleta das amostras em relação à ocorrência do trauma. Coletas mais precoces ou mais tardias, poderiam estar associadas a respostas mais evidentes do sistema imunológico. Para esclarecer esta questão, nosso grupo está investigando os níveis de IL-10 e TNF em diferentes tempos após o TCE.



## **6- CONCLUSÃO**

O estudo não permitiu estabelecer a existência ou não de associação entre os níveis séricos de IL-10 e TNF e a gravidade do TCE.

Estudos mais abrangentes estão em andamento para permitir a obtenção de resultados mais conclusivos sobre a participação das citocinas IL-10 e TNF na fisiopatologia e prognóstico de pacientes com TCE.

## **FINANCIAMENTO**

O trabalho foi financiado pela FAPESC, CNPq. A doutoranda foi Bolsista PIBIC/CNPq durante o período de execução deste projeto.

## REFERÊNCIAS

1. M.A. Poca: Actualizaciones en la fisiopatología y tratamiento de los pacientes con un traumatismo craneoencefálico. Servicio de Neurocirugía. Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona. 2004.
2. Bruns J Jr, Hauser WA. The epidemiology of traumatic brain injury: a review. *Epilepsia*. 2003; 44(10):2-10.
- 3- Bárcena-Orbe A, Rodríguez-Arias CA, Rivero-Martín B, Canizal-Garcia GM, Mestre-Moreiro C, Calvo-Pérez JC. Overview of head injury. *Neurocirugia (Astur)*. 2006; 17(6):495–518.
4. Marshall LF, Marshall SB, Klauber MR, Clark MB, Eisenberg HM, Jane JA, et al. A new classification of head injury based on computerized tomography. *J Neurosurg*. 1991; 75:14-20.
- 5- Koizumi MS, Araújo GL. Escala de Coma de Glasgow - subestimação em pacientes com respostas verbais impedidas. *Acta Paul Enferm*. 2005; 18(2):136-42.
- 6- Jennett B, Snoek J, Bond MR, Brooks N. Disability after severe head injury: observations on the use of the Glasgow Coma Scale. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1981; 44(4): 285-293.
- 7- Martins ET, Silva TS, Coutinho M. A study of 596 consecutive cases of severe head trauma from 1994 to 2001 in Florianopolis, Brazil. *RBTI*. 2003; 15(1):15-18.
- 8- Maegele M, Engel D, Bouillon B, Lefering R, Fach H, Raum M, et al. Incidence and Outcome of Traumatic Brain Injury in an Urban Area in Western Europe over 10 Years. *Eur Surg Res*. 2007; 39(6):372–379.

- 9- Massini M. Epidemiological study of head injuries in the Federal District of Brazil. *J Bras Neurocirurg*. 1994; 5(2):61-8.
- 10- Martins ETW, Linhares MN, Souza DS, Schroeder HK, Meinerz J, Rigo, LA, et al. Mortality in Severe Traumatic Brain Injury: A Multivariate Analysis of 748 Brazilian Patients From Florianopolis City. *J Trauma*. 2009; 67(1):85-90.
- 11- Tagliaferri F, Compagnone C, Korsic M, Servadei F, Kraus J. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. *Acta Neurochir(Wien)*. 2006; 148(3):255-68.
- 12- Sosin DM, Sniezek JE, Waxweiler RJ. Trends in death associated with traumatic brain injury, 1979 through 1992: success and failure. *JAMA* 1995; 273(22):1778–80.
- 13- Koizumi MS, Lebrao ML, Mello-Jorge MH, Primerano V. Morbidity and mortality due to traumatic brain injury in Sao Paulo City, Brazil, 1997. *Arq Neuropsiquiatr*. 2000; 58(1):81-89.
- 14- Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 1997; 349(9063): 1436–42.
- 15- Perel P, Edwards P, Wentz R, Roberts I. Systematic review of prognostic models in traumatic brain injury. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2006; 6:38.
- 16- Murray GD, Butcher I, McHugh GS, Lu J, Mushkudiani NA, Maas AI, Marmarou A, Steyerberg EW. Multivariable prognostic analysis in traumatic brain injury: results from the IMPACT study. *J Neurotrauma*. 2007; 24(2):329-337.
- 17- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Patologia-Bases Patológicas das Doenças*. 7th Ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.
- 18- Arai KI, Lee F, Miyajima A, Miyatake S, Arai N, Yokota T. Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Annu Rev Biochem*. 1990; 59: 783–836.
- 19- Schroeter M, Jander S. T-Cell Cytokines in Injury-Induced Neural Damage and Repair. *NeuroMolecular Med*. 2005; 7(3):183-95.

- 20- Parham P. The immune System. Garland Publishing/Elsevier Science Ltd. 2000.
- 21- Schmid-Schonbein G. W. Analysis of Inflammation. Annu Rev Biomed Eng. 2006; 8:93-151.
- 22- Sredni-Kenigsbuch D. Th1/Th2 Cytokines in Central Nervous System. Int J Neurosci. 2002; 112(6):665-703.
- 23- Ransohoff RM, Kivisäkk P, Kidd G. Three or more routes for leucocyte migration into the central nervous system, Nat Rev Immunol. 2003; 3(7): 569-81.
- 24- Maier B, Lefering R, Lehnert M, Laurer HL, Steudel WI, Neugebauer EA, et al, Early versus late onset of multiple organ failure is associated with differing patterns of plasma cytokine biomarker expression and outcome after severe trauma. Shock. 2007; 28(6):668-74.
- 25- Balasingam V, Yong VW. Attenuation of Astroglial Reactivity by Interleukin-10. J Neurosci. 1996; 16(9):2945–2955.
- 26- Lai AY, Todd KG. Differential regulation of trophic and proinflammatory microglial effectors is dependent on severity of neuronal injury. Glia. 2008; 56(3):259-70.
- 27- Morganti-Kossmann MC, Satgunaseelan L, Bye N, Kossmann T. Modulation of immune response by head injury. Injury. 2007; 38(12):1392-400.
- 28- Garg SK, Kipnis J, Banerjee R. IFN-gamma and IL-4 differentially shape metabolic responses and neuroprotective phenotype of astrocytes. J Neurochem. 2009; 108(5):1155-66.
- 29- Kirchhoff C, Buhmann S, Bogner V, Stegmaier J, Leidel BA, Braunstein V, et al. Cerebrospinal IL10 concentrations is elevated in non survivors as compared to survivors after severe traumatic brain injury. Eur J Med Res. 2008; 13(10): 464-8.

- 30- Morganti-Kossmann MC, Satgunaseelan L, Bye N, Kossmann T. Modulation of immune response by head injury. *Injury*. 2007; 38(12):1392-400.
- 31- Woiciechowsky C, Asadullah K, Nestler D, Eberhardt B, Platzer C, Schoning B, et al. Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury. *Nat Med*. 1998; 7:808-813.
- 32- Platzer C, Meisel C, Vogt K, Platzer M, Volk HD. Up-regulation of monocytic IL-10 by tumor necrosis factor-alpha and cAMP elevating drugs. *Int Immunol*. 1995; 7(4): 517-532.
- 33- Wanidworanun C, Strober W. Predominant role of tumor necrosis factor-alpha in human monocyte IL-10 synthesis. *J Immunol*. 1993; 151(12):6853-6861.
- 34- Pineda JA, Wang KK, Hayes RL. Biomarkers of proteolytic damage following traumatic brain injury. *Brain Pathol*. 2004; 14(2):202-9.
- 35- Maegele M, Engel D, Bouillon B, Lefering R, Fach H, Raum M, et al. Incidence and outcome of traumatic brain injury in an urban area in western europe over 10 Years. *Eur Surg Res*. 2007; 39(6):372-379.
- 36- Jain KK. Neuroprotection in traumatic brain injury. *Drug Discov Today*. 2008; 13(23): 1083-1089.

## **NORMAS ADOTADAS**

Este trabalho foi realizado seguindo a normatização para trabalhos de conclusão do Curso de Graduação em Medicina, resolução nº. 001/2005, aprovada em reunião do Colegiado do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina, em 27 de novembro de 2005.

## ANEXO I

### Protocolo de coleta - TCE NUPNEC-UFSC

ADMISSÃO ( Primeira Coleta)

Data:

Data do Trauma:

Hora do Trauma:

Causa do Trauma:

Atendimento Pré-Hospitalar

Data da Coleta:

Hora da Coleta

Data da Admissão UTI.:

Hora da Admissão UTI:

Neurocirurgia:

Tempo de Neurocirurgia

PA:

Pulso:

Freq. Resp.:

Se Ventilação Mecânica: ( )FR

( )Fio2

( )PEEP

Gasometria Arterial:

pH:

O2CN(litro/min):

PCO2:

HCO3:

PO2:

Sat O2

Glicemia:

Sódio:

Potássio

Hemograma: Ht

Plaquetas

Hb

leucócitos

segmentos

Uréia

Creatinina

Pupilas ( )isocóricas ( )mióticas ( )anisocóricas ( )midríáticas

Escala Glasgow: ( ) abertura ocular ( ) comandos ( ) resposta motora

## SEGUNDA COLETA(24 HORAS APÓS ADMISSÃO)

Data da Coleta:

Hora da Coleta

PA:

Pulso:

Freq. Resp.:

Se Ventilação Mecânica: ( )FR

( )Fio2

( )PEEP

Gasometria Arterial: pH:

PCO2:

PO2:

O2CN(litro/min):

HCO3:

SatO2:

Glicemia:

Sódio:

Potássio:

Hemograma: Ht

Plaquetas:

Hb

leucócitos

segmentos

Uréia:

Creatinina:

Pupilas: ( )isocóricas ( )mióticas ( ) anisocóricas ( )midriáticas

Escala Glasgow: ( ) abertura ocular ( ) comandos ( ) resposta motora

## TERCEIRA COLETA (72 HORAS APÓS ADMISSÃO)

Data da Coleta:

Hora da Coleta

PA:

Pulso:

Freq. Resp.:

Se Ventilação Mecânica: ( )FR

( )Fio2

( )PEEP

Gasometria Arterial: pH:

PCO2:

PO2:

O2CN(litro/min):

HCO3

Sat O2:

Glicemia:

Sódio:

Potássio:

Hemograma: Ht

Plaquetas

Hb

leucócitos

segmentos

Uréia:

Creatinina:

Pupilas: ( )isocóricas ( )mióticas ( ) anisocóricas ( )midriáticas

Escala Glasgow: ( ) abertura ocular ( ) comandos ( ) resposta motora



## INFORMAÇÕES GERAIS

Nome: Idade: Sexo: Registro:  
Endereço: Bairro: Cidade:  
CEP: Telefone:

Trauma Associado: ( )sim ( )não ( )tórax ( )abdome ( )col. cervical  
( ) col. tóraco lombar ( )membros ( )face

Tomografia na Admissão(Marshall): H.S.A. ( )sim ( )não

Tipo de massa: ( ) hematoma extra-dural ( )hematoma subdural ( )hematoma  
infra-parenquimatoso

Recebeu reposição de volume na admissão ( )sim ( ) não retirada:

Transfundido: ( )sim ( )não Data

Monitorização PIC : ( )sim ( )não Data início Data Retirada

Ventilação Mecânica: : ( )sim ( )não Data início Data Retirada

Traqueostomia: ( )sim ( )não Data

Coma Induzido : ( )sim ( )não Data início Data Retirada

Infecção Respiratória: ( )sim ( )não Insuficiência Renal: ( )sim ( )não

Sépsi: ( )sim ( )não Infecção Urinária: ( )sim ( )não

S.A.R.A.: ( )sim ( )não P.C.R.: ( )sim ( )não Data: Hora:

Sangue Bulbo-jugular: ( )sim ( )não Data:

Droga Vasoativa: ( )sim ( )não Data início Data Retirada

Óbito: ( )sim ( )não

Data de alta da UTI: Data de alta do Hospital:

Escala de Outcome de Glasgow:

**NOME:**

**REGISTRO:**

**MONITORIZAÇÃO DA PIC:**

DATA	HORÁRIO	HORÁRIO	HORÁRIO	HORÁRIO	HORÁRIO	HORÁRIO

**Laudo da TC:**

**Relatório da neurocirurgia:**

## ANEXO II

### **Termo de consentimento pós- informação (para familiar)**

**Estudo** - Análise da relação entre estresse oxidativo e mortalidade em pacientes com traumatismo crânio encefálico grave

Está sendo realizado no Serviço de Medicina Intensiva do Hospital Governador Celso Ramos um estudo para verificar fatores que influenciam na mortalidade de pacientes com traumatismo craniano. Entre estes fatores estão os radicais livres. Estas substâncias são produzidas normalmente em pequenas quantidades no corpo, ajudando em diversas funções. Em certas situações os radicais livres aumentam muito podendo prejudicar o organismo. O objetivo deste trabalho é determinar se os radicais livres são produzidos em maior quantidade em pacientes que sofreram traumatismo, para, no futuro, poder melhorar o tratamento destes pacientes.

Pra participar do estudo será necessário coletar, além dos exames normais determinados pelo seu médico, 5 ml de sangue a mais do que é coletado para exames de rotina, em três dias diferentes. A retirada deste sangue será feita com os exames de rotina, não sendo necessário punção venosa adicional.

Mesmo que o senhor decida não autorizar a participação no estudo, não haverá nenhum prejuízo no atendimento de seu familiar no hospital.

Declaro ter lido as informações sobre o estudo acima. Concordo em autorizar a participação de meu familiar \_\_\_\_\_ no estudo e a coleta de sangue para medir os radicais livres.

Estou de acordo que os resultados do estudo sejam publicados de forma anônima numa revista científica.

Florianópolis, \_\_\_\_ de \_\_\_\_ de 200\_\_

Familiar responsável \_\_\_\_\_

## FICHA DE AVALIAÇÃO

A avaliação dos trabalhos de conclusão do Curso de Graduação em Medicina obedecerá os seguintes critérios:

- 1º. Análise quanto à forma;
- 2º. Quanto ao conteúdo;
- 3º. Apresentação oral;
- 4º. Material didático utilizado na apresentação;
- 5º. Tempo de apresentação:
  - 15 minutos para o aluno;
  - 05 minutos para cada membro da Banca;
  - 05 minutos para réplica

DEPARTAMENTO DE: \_\_\_\_\_

ALUNO: \_\_\_\_\_

PROFESSOR: \_\_\_\_\_

### NOTA

- 1. FORMA .....
- 2. CONTEÚDO .....
- 3. APRESENTAÇÃO ORAL .....
- 4. MATERIAL DIDÁTICO UTILIZADO .....

MÉDIA: \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_)

Assinatura: \_\_\_\_\_